第28卷 第1期 昆 虫 学 报 Vol. 28, No. 1
1985年2月 ACTA ENTOMOLOGICA SINICA Feb., 1985

蜕皮激素与丝蛋白合成:植源性蜕皮激素对家蚕后部丝腺核酸代谢的影响

戴玉锦 李 瑞 张裕清
(苏州蚕桑专科学校)

摘要 给家蚕五龄幼虫添食植源性蜕皮激素(以下简称 MH),对后部丝腺的核酸代谢都有直接影响,但由此引起的效应却是复杂的,与添食的时期和剂量以及蚕品种等因素有关。五龄每天低剂量(夏蚕 0.5 微克/头,春蚕 2 微克/头)连续添食和前期一次添食(2—4 微克/头)对后丝腺 RNA 的合成都有明显的促进作用,并且 RNA 含量增长高峰是在五龄中期以后;每天较高剂量连续添食和中期一次添食,都表现为抑制作用。添食 MH 对后部丝腺 DNA 合成的影响与 RNA的变化不尽一致;在每天 0.5 微克/头连续添食区表现出强烈的促进作用,而其余各处理区都出现明显的抑制。由此认为 MH 能直接作用于遗传物质 DNA,通过调节有关基因的复制或者转录速度,从而对丝蛋白的生物合成产生某种影响。

关键词 家蚕 核酸代谢 丝腺 蜕皮激素

昆虫蜕皮激素(简称 MH)的研究是近四十年来的事。本世纪四十年代,日本福田对家蚕进行结扎、断头和器官移植等试验,发现前胸腺的存在及其分泌物与幼虫蜕皮及变态有着密切关系 (Fukuda, 1940、1944)。1954 年德国 Max-Planek 研究所首次从 500 公斤蚕蛹中分离制得 25 毫克天然 MH 结晶称为蜕皮酮 (ecdyson) (Butenandt 等, 1954)。以后 Huber 等(1965)鉴定了化学结构,指出它是一种甾族激素。日本中西香尔等从我国台湾省产的罗汉松叶子中,发现具有昆虫蜕皮激素活性的百日青甾酮 (Nakanishi 等, 1966)。对一千多种植物进行筛选,找到五十多种植物都含有这类化合物,统称为植源性蜕皮激素 (Phytoecdysones)。这为养蚕生产上的应用开辟了广阔的前景。

我国自七十年代以来,开展了 MH 植物资源的普查和筛选工作,同时进行了利用 MH 的养蚕试验。现在,国内养蚕生产上已普遍在见熟时使用 MH,收到上簇历程短、熟蚕齐一、节约桑叶和劳力的良好效果;在缺桑或发生蚕病情况下提早添食,可促使蚕儿早熟营茧、减少损失。然而, MH 在养蚕上的应用还有新的发展。日本 74 年以来已把 MH 作为一种增丝剂。为了促使 MH 在我国养蚕生产上的应用得到新的发展,有必要开展对 MH 增丝机理的研究。我们在 1981 年—1983 年进行的试验表明: 添食 MH 能够促进家蚕后部丝腺谷-丙转氨酶的活力,并与添食时期及剂量无关;但对产丝量的影响却随着添食时期及剂量的变化而不同(李瑞等,1984),这说明添食 MH 不仅对谷-丙转氨酶的活力有影响,而且对丝蛋白合成体系的其他因子也有效应,从而使添食 MH 对丝蛋白合成表现出复杂的关系。因此进一步探讨了添食 MH 对丝蛋白合成体系其他因子的作用。现将工作结果整理报道如下。

材料和方法

一、材料与设区

本文于 1983 年 11 月收到。

供试材料 1982 年夏蚕东$_{34}$×苏$_{12}$；83 年春蚕苏$_{5}$×苏$_{6}$。

设区 家蚕五龄饷食始，每天连续添食植源性 MH*，剂量分别为每头 0.5、2 和 4 微克；五龄前期(24 小时或 48 小时)和中期(72 小时)一次添食 MH，剂量分别为每头 2、4 微克。各区添食 MH 后，每隔 24 小时取雌雄蚕儿各 5 头，冷冻解剖取出后部丝腺，立即进行核酸的分离与测定。另设清水添食对照区，亦同样处理。

二、核酸的分离

本实验采用 Schmidt-Thannhauser-Schneider 法分离核酸，并略加改进：冷冻解剖的后部丝腺放入预冷的蒸馏水 5 毫升中，冰浴条件下研磨成匀浆。加入 5 毫升预冷的 20% 三氯醋酸溶液，搅匀并转移到离心管内，在日立 20PR-52D 型高速冷冻离心机上离心 10 分钟(2℃，6000×g，下同)，除去酸溶性杂质。沉淀再加 10 毫升预冷的 10% 三氯醋酸溶液，搅匀，同样离心 10 分钟，弃去上清液。然后，对沉淀分别用 10 毫升预冷的 95% 乙醇、氯仿甲醇混合液(2:1)以及无水乙醇分别处理，以除去脂类杂质，最后向沉淀中加入 0.3 *N* 氢氧化钾溶液 10 毫升，置 37℃ 水浴保温 90 分钟后，加入 6*N* 盐酸 1.65 毫升，冷却后离心，收集上清液；再将沉淀悬于 0.1*N* 盐酸 8.35 毫升，离心分离之。合并两次上清液，并以 0.1*N* 盐酸定容积至 20 毫升，此为核糖核酸 (RNA) 分离液，置冰箱待测。沉淀再悬浮于 20 毫升 5% 高氯酸溶液中，置 80℃ 水浴保温 30 分钟后，离心分离，取上清液用 5% 高氯酸溶液定容积至 20 毫升，此为脱氧核糖核酸 (DNA) 分离液，置冰箱待测。

三、核酸的测定

1. RNA 含量的测定

取 RNA 分离液 0.5 毫升，加入 5% 高氯酸溶液 9.5 毫升，摇匀，以 5% 高氯酸溶液为空白，在日立 200—20 型紫外分光光度计上测 O. D_{260} 值。

2. DNA 含量的测定

取 DNA 分离液 1 毫升，加入 5% 高氯酸溶液 4 毫升，摇匀后测 O. D_{260} 值。

RNA 和 DNA 测得的结果进行计算，求出每头家蚕后部丝腺中 RNA 和 DNA 的含量。

结 果 与 分 析

一、添食 MH 对家蚕后部丝腺 RNA 代谢的影响

家蚕后部丝腺 RNA 的合成代谢，在五龄期间极为活跃。对照区的结果表明：从龄初到龄末，后丝腺 RNA 的含量持续升高，夏蚕 RNA 含量最高峰是在熟后一日；春蚕是熟蚕前一日，熟蚕时反而下降。

添食 MH 对后部丝腺 RNA 合成的影响，因添食时期和剂量不同而有变化。夏蚕试验表明，五龄每天连续添食 0.5 微克/头，对后丝腺 RNA 的合成具有显著的促进作用，平均增长 9%，但添食区 RNA 合成的最高峰移至熟前一日(五龄 120 小时)，比对照区同日增长 47%。每天连续添食剂量在 2—4 微克/头反而有抑制作用。但春蚕试验表明，连续添食 0.5—2 微克/头对后丝腺 RNA 的合成都有促进作用，添食区 RNA 合成的最高峰

* MH 由浙江省海宁县农药厂生产的植源 β-蜕皮激素(每管：40 mg/2ml)。

也与对照区一致。并且,以 2 微克/头连续添食的结果更为明显,比对照区平均增加 10%。当每天连续添食剂量达到 4 微克/头时,也转为抑制作用。这些结果说明,连续添食 MH 的合适剂量要根据蚕品种作出决定。见图 1 和表 1。

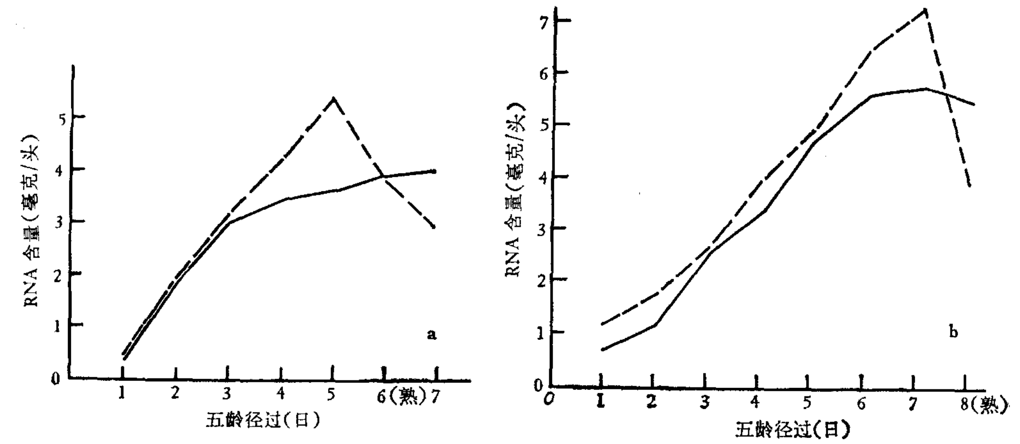


图 1 五龄连续添食 MH 对后丝腺 RNA 合成的促进作用

a.添食 MH 0.5 微克/头;品种:东$_{34}$×苏$_{12}$ b. 添食 MH 2 微克/头;品种:苏$_5$×苏$_6$

-----处理区 ——对照区

表 1 五龄连续添食 MH 对后丝腺 RNA 代谢的影响(RNA 毫克/头)

试验蚕品种	MH(微克/头) \ 五龄经过(足日)	1	2	3	4	5	6	7	8	平均	指数
东$_{34}$×苏$_{12}$	0.5	0.47	1.97	3.22	4.22	5.44	3.91	2.98		3.17	109
	2	0.46	1.68	2.75	3.39	4.35	3.22	2.96		2.60	92
	4	0.42	1.61	2.42	3.35	4.52	3.02	2.52		2.55	88
	对照	0.37	1.85	3.01	3.49	3.69	3.96	4.07		2.91	100
苏$_5$×苏$_6$	0.5	1.05	1.70	2.60	4.10	5.14	5.72	6.32	4.28	3.86	103
	2	1.20	1.80	2.70	4.05	5.06	6.62	7.44	4.00	4.10	110
	4	0.80	1.30	2.65	3.15	4.56	5.80	6.12	3.68	3.63	97
	对照	0.70	1.20	2.55	3.40	4.84	5.72	5.92	5.62	3.74	100

在一次添食区,添食 MH 的影响似主要取决于添食时期。

五龄前期一次添食 MH,对后丝腺 RNA 的合成表现出促进作用。夏蚕在五龄二日(48 小时)添食 MH,春蚕在五龄饷食(24 小时)添食 MH,隔日连续测定,从总的结果看,无论添食 2 微克/头,还是 4 微克/头,后丝腺 RNA 的含量都比对照区有所提高。但夏蚕以添食 2 微克/头效果明显,平均增长 4%;而春蚕都以添食 4 微克/头最佳,平均增长5%(见表 2)。

五龄中期一次添食 MH,对后丝腺 RNA 的合成具有抑制作用(见表 3)。

二、添食 MH 对家蚕后部丝腺 DNA 代谢的影响

家蚕幼虫在五龄期间,其后部丝腺 DNA 的合成也极为强烈。以对照区结果看,DNA

表 2 五龄前期添食 MH 对后丝腺 RNA 代谢的影响(RNA 毫克/头)

试验蚕品种	五龄经过(足日) / MH(微克/头)	2	3	4	5	6	7	8	平均	指数
东$_{34}$×苏$_{12}$	2		2.34	4.15	4.68	4.26	3.39		3.76	104
	4		2.72	3.97	4.52	4.45	3.26		3.69	102
	对照		3.01	3.49	3.69	3.96	4.01		3.63	100
苏$_5$×苏$_6$	2	1.60	2.20	3.55	5.20	5.90	6.14	3.40	4.00	102
	4	1.30	2.30	3.95	5.35	5.84	6.28	3.76	4.11	105
	对照	1.20	2.55	3.40	4.84	5.72	5.92	5.62	3.91	100

表 3 五龄中期添食 MH 对后丝腺 RNA 代谢的影响 (RNA 毫克/头)

试验蚕品种	五龄经过(足日) / MH (微克/头)	5	6	7	8	平均	指数
东$_{34}$×苏$_{12}$	2	3.36	3.87	3.45		3.63	93
	4	2.55	3.68	3.15		3.03	78
	对照	3.69	3.98	4.01		3.87	100
苏$_5$×苏$_6$	2	3.76	5.92	4.40	2.76	4.21	81
	4	2.44	4.60	3.12	2.60	3.19	61
	对照	4.84	5.72	5.92	5.62	5.19	100

表 4 五龄连续添食 MH 对后丝腺 DNA 代谢的影响(DNA 微克/头)

试验蚕品种	五龄经过(足日) / MH(微克/头)	1	2	3	4	5	6	7	8	平均	指数
东$_{34}$×苏$_{12}$	0.5	57.23	168.88	235.37	301.86	395.99	561.81	418.83		305.71	116
	2	50.61	132.52	138.11	270.11	293.12	447.50	289.34		231.62	88
	4	43.61	83.57	202.21	222.03	281.47	342.66	325.27		214.40	81
	对照	54.55	139.16	178.90	266.90	348.47	488.55	366.26		263.24	100
苏$_5$×苏$_6$	0.5	202.10	221.70	337.60	453.50	590.37	727.24	830.41	690.92	506.73	110
	2	131.10	167.15	208.65	315.05	401.05	568.53	730.76	603.00	390.59	85
	4	62.90	70.25	77.60	246.50	397.20	413.28	646.16	405.60	289.86	63
	对照	155.85	195.80	235.65	388.10	576.24	685.32	777.64	671.32	460.74	100

含量是逐日递增的，尤其在五龄中期后上升幅度更大。夏蚕五龄三日与五龄一日相比，增长至 3 倍，而五龄六日增长至 9 倍。春蚕有相同倾向。

添食 MH 对家蚕后部丝腺 DNA 合成的效应，仅每天连续添食 0.5 微克/头表现出强烈的促进作用，夏蚕平均增长 16%，春蚕平均增长 10%；其他各处理区则表现为程度不同的抑制作用(见表 4、5、6)。

讨 论

一、家蚕后部丝腺是合成丝蛋白的主要场所，食下的桑叶，在五龄中期以前，主要用

表5 五龄前期添食 MH 对后丝腺 DNA 代谢的影响（DNA 微克/头）

试验蚕品种	五龄经过(足日) / MH（微克/头）	2	3	4	5	6	7	8	平均	指数
东$_{34}$×苏$_{12}$	2		194.64	305.94	370.98	177.45	363.63		282.53	87
	4		209.21	308.32	457.69	152.10	311.19		287.70	87
	对照		178.90	266.90	348.47	488.55	366.26		329.82	100
苏$_5$×苏$_6$	2	158.40	289.15	538.88	656.30	693.40	543.26	562.46	492.56	98
	4	77.60	262.10	490.55	593.54	696.52	562.41	409.10	441.69	86
	对照	195.80	235.65	388.10	576.24	685.32	777.64	671.32	504.30	100

表6 五龄中期添食 MH 对后丝腺 DNA 代谢的影响（DNA 微克/头）

试验蚕品种	五龄经过(足日) / MH（微克/头）	5	6	7	8	平均	指数
东$_{34}$×苏$_{12}$	2	268.37	442.13	299.82		336.77	84
	4	290.21	445.80	295.99		344.00	86
	对照	348.47	488.55	366.26		401.09	100
苏$_5$×苏$_6$	2	360.84	651.76	716.08	511.88	560.14	83
	4	394.10	620.96	648.96	596.52	565.14	83
	对照	576.24	685.32	777.64	671.32	677.63	100

于建造蚕体，这时蚕体(包括后部丝腺)迅速生长；在五龄中期以后，生长已基本完成，这时继续食下的桑叶，主要用于丝蛋白的合成，因此，从五龄中期以后直到上簇第二天是丝蛋白合成的旺盛时期。

丝蛋白的合成是由核酸、酶和其他因子参与下发生的复杂过程。在进行着蛋白质生物合成的细胞中，核酸的含量特别丰富。Chinzei（1972）指出，家蚕后部丝腺细胞内 DNA 和 RNA 含量均比一般细胞高；吴秋雁等(1978)报道，家蚕后部丝腺中 DNA 和 RNA 的含量，在五龄期间是不断增加的，我们同样观察到，家蚕后部丝腺的核酸合成从五龄初期到上簇持续升高，在五龄中期以后增长幅度更大。据夏蚕对照区结果比较，DNA 含量在五龄三足日比五龄一足日增加 3 倍，而六足日则增至 9 倍；RNA 含量五龄三足日比初期增加 9 倍，而七足日则增至 11 倍。春蚕有相同的倾向，五龄中期以后，后部丝腺 DNA 与 RNA 含量的迅速增长，是与丝蛋白的大量合成直接相关的。

二、由前胸腺分泌的 MH 促使幼虫蜕皮及变态。后部丝腺细胞和皮肤细胞一样，是 MH 作用的靶细胞。促进后部丝腺细胞大量合成丝蛋白，是配合变态进程的生理活动之一。MH 的分泌与后丝腺细胞内核酸及丝蛋白的大量合成倾向一致。

通过五龄幼虫添食 MH 的试验证明 MH 能直接影响后部丝腺的核酸代谢，但由此引起的效应都是复杂的，与添食时期和剂量以及蚕品种等因素有关。试验的结果表明，五龄每天低剂量(0.5—2 微克/头)连续添食和五龄前期一次添食（2—4 微克/头）都能促进后部丝腺 RNA 的合成，并且 RNA 含量增长高峰是在五龄中期以后，这直接增强了丝蛋白的合成能力。但五龄每天较高剂量连续添食和五龄中期一次添食，对后丝腺RNA 的

合成反而有抑制作用，此种效应在蚕品种之间有着很大的差异。如在连续添食区，每天0.5 微克/头和 2 微克/头都对多丝量品种（苏$_5$ × 苏$_6$）表现出促进作用，而对少丝量品种（苏$_{74}$×苏$_{12}$）前者表现为促进，后者却表现为抑制。添食 MH 对后丝腺 DNA 合成的影响，与上述 RNA 的变化有很大不同：在每天 0.5 微克/头连续添食区表现出强烈的促进作用，在其余各处理区都出现明显的抑制作用。这说明添食 MH 对后丝腺 RNA 和 DNA 的效应并不总是一致的。以上试验结果还说明：添食 MH 对后丝腺 RNA 合成的效应，与对丝蛋白合成的影响相一致。根据国内外资料以及我们的调查，五龄前期一次添食和五龄每天低剂量连续添食，都有增加产丝量的效果。由于 RNA 直接参加蛋白质合成过程，它在后丝腺细胞中含量的变化，必然影响着丝蛋白的合成。

根据上述，我们认为：五龄每天低剂量连续添食和五龄前期一次添食 MH，都能促进后部丝腺 RNA 的合成，可能是因 MH 直接促进 DNA 链上与丝蛋白合成有关基因的大量复制，从而为转录准备了更多的模板；另一种情况是 MH 虽然抑制了 DNA 链有关基因的复制，但仍促进转录的速度。因此通过这两种调节方式，MH 都促进了五龄中期以后后丝腺细胞RNA 含量的迅速增长，从而为增加丝蛋白的合成提供了物质基础。

参 考 文 献

吴秋雁、胡召元、郭 郛 1978 昆虫保幼激素类似物对家蚕丝腺中核酸代谢的效应。昆虫学报 **21**(3)：290—5。

李 瑞 戴玉锦、朱 江、张裕清 1984 蜕皮激素对家蚕后部丝腺谷氨酸——丙酮酸转氨酶活力的影响。昆虫学报 **27** (1)：1—7。

Butenandt, A. and P. Karlson, 1954 Uber die Isolierung eines Metamorphose Hormons der Insekten in Kristellisierter Form. Z. *Naturforsch.* 9b, 389—91.

Chinzei, Y. et al., 1972 Nucleic acid changes in the whole body and several organs of the silkworm, *Bombyx mori* L., during metamorphosis. *J. Insect Physiol.* **18**(9): 1683—97.

Chou Wei-shan and Lu Horng-sheng 1980 Growth regulation and silk production in *Bombyx mori* L. from phytogenous ecdysterioids. In: Progress in Ecdysone Research, ed. J. A. Hoffmann. Elsevier/ North-Holland.

Fukuda, S., 1940 Hormonal control of molting and pupation in the silkworm. *Proc. Imp. Acad. Tokyo* **16**: 417—20.

————, 1944 The hormonal mechanism of larval molting and metamorphosis in the silkworm. *J. Fac. Sci., Tokyo Imp. Univ., Sec. IV*, **6**: 477—532.

Huber, R. and W. Hoppe, 1965 Die Kristall-und Moleküstrukturanalyse des Insektenverpuppungshormons Ecdyson. *Chem. Ber.* **98**: 2403—24.

Karlson, P., 1980 Ecdysone in retrospect and prospect. In: Progress in Ecdysone Research, ed. J. A. Hoffmann Elsevier/North-Holland.

Nakanishi, K., S. Sasaki, M. L. Chang and H. Y. Hsu, 1966 Insect hormones: The structure of ponasterone A, an insect molting hormone from the leaves of Podocarpus nakaii Hat. *Chem. Commun.* **24**: **1914—7.**

MOLTING HORMONE AND SILK PROTEIN SYNTHESIS: EFFECT OF ECDYSONE ON NUCLEIC ACID METABOLISM IN THE POSTERIOR PORTION OF SILK GLAND IN *BOMBYX MORI*

DAI YU-JIN LI RUI ZHANG YU-QING
(Suzhou Institute of Sericulture)

Oral administration of phytogenous β-eodysone (MH) in the last instar of silkworm *Bombyx mori* had direct influence on the metabolism of nucleic acids in the posterior portion of silk gland. But the results varied with the time of administration, the MH dosage, as well as the races of the silkworm. Apparent enhancement in RNA synthesis was effected by daily administration in the dosage of 0.5 μg/larva for the summer race and 2.0 μg/larva for the spring race, or administration for once in the dosage of 2—4 μg/larva in the early stage of the instar. The peak of RNA appeared in the late half of the last instar. Oral adminstration with MH in over dosage in either method would inhibit nucleic acid synthesis. The influence of oral adminstration with MH on DNA synthesis was different from that on RNA synthesis. Daily adminstration in the dosage of 0.5 μg/larva would bring forth greater stimulative action, but higher dosage would apparently cause inhibition. It is conjectured that MH can diretly act on DNA and adjust the rate of relevant genic replication or transcription so that the rate of biosynthesis of silk protein is changed.

Key words *Bombyx mori*——nucleic acid metabolism——silk gland——ecdysone